

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Dora Tomek

Imunoterapija karcinoma prostate

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2015.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Katedri za patofiziologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom doc.dr.sc. Borislava Beleva, dr.med. i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2014./2015.

POPIS KRATICA KORIŠTENIH U RADU

3D-CRT – 3D conformal radiotherapy (3D konformalna radioterapija)

ADCC – antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (citotoksičnost ovisna o protutijelima posredovana stanicama)

APCs – antigen-presenting cells (antigen prezentirajuće stanice)

B-NHL – B stanični Ne-Hodgkinov limfom

BSC - best supportive care (najbolja suportivna njega)

CAB - complete androgen blockade (potpuna androgena blokada)

CDC – complement dependent cytotoxicity (citotoksičnost ovisna o komplementu)

CRPC – castration resistant prostate carcinoma (karcinom prostate rezistentan na kastraciju)

CTL – citotoksični limfociti

CTLA-4 - T-lymphocyte associated antigen 4

DCs – dendritic cells (dendritičke stanice)

DRP – digitorektalni pregled

EGF – epidermal growth factor (epidermalni čimbenik rasta)

FDA - Food and Drug Administrationa

GM-CSF – granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (čimbenik poticanja kolonija granulocita i makrofaga)

HER2 – human EGF receptor 2

IL-10 – interleukin-10

IL-1 β – interleukin 1 β

IL2 – interleukin 2

IMPACT - Immunotherapy for Prostate Adenocarcinoma Treatment

MHC - Major histocompatibility complex

mPT - monoklonalna protutijela

OS – overall survival (ukupno produženje života)

PAP – prostate acid phosphatase (prostata kisela fosfataza)

PBMCs – peripheral-blood mononuclear cells (autologne mononuklearne stanice periferne krvi)

PFS – progression free survival (preživljenje bez progresija bolesti)

PSA – prostate specific antigen (prostata-specifični antigen)

PSMA - prostate specific membrane antigen (prostata-specifični membranski antigen)

rlč – regionalni limfni čvorovi

TAAAs – tumor associated antigens (antigeni povezani s tumorom)

TCR - T-cell receptor (T-stanični receptor)

TGF- β – Transforming growth factor β (transformirajući faktor rasta β)

TILs- tumor infiltrating lymphocytes (limfociti koji infiltriraju tumor)

TRAMP - Transgenic Adenocarcinoma of the Mouse Prostate (transgenični adenokarcinom mišje prostate)

Tregs – regulatory T- cells (regulatorni T-limfociti)

TTP - time to progression (vrijeme do progresije)

VEGF - vascular endothelial growth factor (vaskularni endotelni čimbenik rasta)

SADRŽAJ

SAŽETAK

SUMMARY

1	UVOD – IMUNOTERAPIJA U LIJEČENJU TUMORA	1
1.1	PASIVNA IMUNOTERAPIJA	2
1.1.1	MONOKLONALNA PROTUTIJELA	2
1.1.2	CITOKINI	2
1.2	ADOPTIVNA IMUNOTERAPIJA	4
1.3	AKTIVNA IMUNOTERAPIJA	5
1.3.1	CJEPIVA NA BAZI DENDRITIČKIH STANICA	5
1.3.2	VIRUSNA CJEPIVA	6
1.3.3	CJEPIVA OD CIJELIH TUMORSKIH STANICA	6
1.3.4	DNA CJEPIVA	7
1.3.5	REKOMBINANTNA PROTEINSKA CJEPIVA	7
2	LIJEČENJE KARCINOMA PROSTATE	8
2.1	POZORNO ČEKANJE	10
2.2	AKTIVNO PRAĆENJE	10
2.3	AKTIVNO LIJEČENJE	10
2.3.1	PROSTATEKTOMIJA	10
2.3.2	RADIOTERAPIJA	11
2.3.3	SISTEMSKA TERAPIJA	11
3	PRIMJENA IMUNOTERAPIJE U LIJEČENJU KARCINOMA PROSTATE	15
3.1	IMUNOLOŠKE KARAKTERISTIKE KARCINOMA PROSTATE	15
3.1.1	TUMORSKI ANTIGENI PROSTATE	16
3.2	KLINIČKA PRIMJENA IMUNOTERAPIJE U LIJEČENJU KARCINOMA PROSTATE	18
3.2.1	SIPOLUCCEL-T	18
3.2.2	IPILIMUMAB	22
3.2.3	PSA-TRICOM (PROSTVAC- VF)	23
3.2.4	GVAX	23
3.2.5	TASQUINIMOD	24
4	BUDUĆNOST IMUNOTERAPIJE U LIJEČENJU KARCINOMA PROSTATE	25
5	ZAHVALE	27
6	POPIS LITERATURE	28
7	ŽIVOTOPIS	32

SAŽETAK

IMUNOTERAPIJA KARCINOMA PROSTATE

DORA TOMEK

Imunoterapija tumora je kao ideja nastala još prije 100 godina, nakon otkrića da imunološki sustav, između ostalog, za zadaću ima i spriječiti razvoja i rasta tumora. Ideja je bila usmjeriti i potpomognuti imunološki sustav na borbu protiv tumorskih stanica. Tada se imunoterapija činila kao atraktivna alternativa konvencionalnim metodama liječenja, posebno zbog niskog stupnja toksičnosti. U pretkliničkim istraživanjima razvijene su brojne nove metode liječenja koje su se temeljile na principima humoralne i stanične imunosti. Nažalost, većina lijekova se nije pokazalo djelotvornima, a samo je mali broj uspio dokazati objektivnu kliničku korist u studijama faze III. Možda su najveću uspješnost u liječenju tumora, od svih oblika imunoterapije, pokazala monoklonalna protutijela (mPT). Ona se danas vrlo uspješno koriste u liječenju različitih karcinoma.

Drugi oblik imunoterapije koji je pokazivao veliki potencijal su tumorska cjepiva. Ona djeluju aktivirajući T-limfocitima posredovanu staničnu imunoreakciju usmjerenu protiv tumorskih stanica. Opet su, i ovdje, mnoge kliničke studije dale nezadovoljavajuće rezultate, no ipak je jedno tumorsko cjepivo našlo svoje mjesto u smjernicama za liječenje. Radi se o Sipoleucel-T, cjepivu od vlastitih dendritičkih stanica, koje se koristi za liječenje metastatskog karcinoma prostate rezistentnog na kastraciju (mCRPC). Ovo je bio veliki napredak u liječenju karcinoma prostate, jer, iako se raniji stadiji karcinoma prostate danas dobro liječe kirurški, radioterapijom i kompletnom androgenom blokadom (CAB), dio pacijenata napreduje u stadij mCRPC. Do prije nekoliko godina pacijenti s tim stadijem bolesti nisu imali alternativu nakon prestanka djelovanja docetaksela, prve linije terapije u mCRPC. U IMPACT studiji faze III dokazano je da Sipoleucel-T produžuje preživljenje za 4 mjeseca (25,8 vs. 21,7 mj) i zato je 2010. odobren od FDA kao prvo tumorsko cjepivo za liječenje mCRPC.

KLJUČNE RIJEČI: imunoterapija, mCRPC, Sipoleucel-T

SUMMARY

IMMUNOTHERAPY OF PROSTATE CANCER

DORA TOMEK

Discovery of anti-tumour immunoreaction back in 19th century was groundwork for development of immunotherapy as cancer treatment. The aim was directing and improving the fight of immune system against tumour cells. Back then, immunotherapy was recognized as an attractive alternative to toxic chemotherapy, leading to the development of numerous new drugs based on humoral and cell immunity. Unfortunately, most of these gave disappointing results in pre-clinical or early clinical research. However, we could say that monoclonal antibodies are *silver lining* of immunotherapy. Today, they are successfully used in treatment of various types of cancer and many other diseases and disorders.

Furthermore, cancer vaccines also showed to be potentially efficient in treating cancer in pre-clinical and clinical settings. Their mechanism of action is activating *T-cell mediated immune reaction* against tumour cells. Although, many studies on cancer vaccines did not give satisfying results, Sipoleucel-T was approved from FDA as first, and so far only, cancer vaccine for treatment of *metastatic castration resistant prostate cancer* (mCRPC). This was a great breakthrough in treatment of prostate cancer, as many patients still progress to the mCRPC stage and, until few years ago, they had no alternative after administration of docetaxel, which is the first line therapy in that stage, but very often inefficient. IMPACT study, a III phase study on 512 patients with mCRPC, led to the FDA approval in April 2010, as it proved that Sipoleucel improves overall survival for 4 months (25,8 vs. 21,7 months).

KEY WORDS: immunotherapy, mCRPC, Sipoleucel-T

1 UVOD – IMUNOTERAPIJA U LIJEČENJU TUMORA

Tumorske stanice su promijenjene vlastite stanice koje su zbog niza nagomilanih mutacija u genomu uspjele izbjeći mehanizme regulacije normalnog rasta. Takve stanice na svojoj površini izražavaju posebne bjelančevine, tumorske antigene, koje organizam domaćina prepoznaje kao tuđe što aktivira imunoreakciju. Poznato je da imunološki sustav domaćina, između ostalog, ima za zadaću i spriječiti nastanak i razvoj zloćudnih tumora. Primjerice, uočeno je da se tumori češće pojavljuju u bolesnika na dugotrajnoj imunosupresivnoj terapiji ili u oboljelih od imunodeficijentnih bolesti. Također, tumori su često prožeti upalnim stanicama i tumorske stanice čine samo polovinu tumorske mase pa je to histološki dokaz imunoreakcije na tumor. Najbolji dokaz da organizam imunološki reagira na tumor je konkomitantna imunost - pojava da organizam u kojemu raste primarni tumor pokazuje otpornost na ponovno uštrcavanje stanica tog tumora na drugo mjesto. Imunosni sustav nadzire sve stanice u organizmu i uništava one koje prepozna kao tuđe, pa tako i zloćudne stanice. No, te stanice nagomilavaju niz mutacija i razvijaju sposobnost izbjegavanja imunološkog sustava, te ipak dolazi do rasta i razvoja tumora. (Andreis I et al. 2010)

Otkriće da postoji imunoreakcija na tumor dovela je znanstvenike na ideju da primjene imunološke metode u liječenju tumora. Koncept imunoterapije je stariji od jednog stoljeća, već je 1897. Paul Erlich predstavio ideju protutumorskog cjepiva. (Erlich P 1960)

Imunoterapija se temelji na poticanju bolesnikove imunološke reakcije u borbi protiv tumora. Imunološka reakcija je izrazito složena i radi se o interakciji niza različitih stanica i njihovih produkata, ali ipak se smatra da najvažniju ulogu ima stanična imunost. Reakcija nije dovoljno jaka da potakne regresiju već uznapredovalog tumora, ali može pomoći u eliminaciji manjeg broja tumorskih stanica i spriječiti napredovanje bolesti. Ona pruža nove mogućnosti liječenja i ima veliki potencijali u poboljšanju djelotvornosti standardnih načina liječenja tumora. Korištenje vlastitog imunološkog sustava u liječenju posebno je interesantno zbog niske toksičnosti i visoke

specifičnosti. (Havranek EG et al. 2002) Do danas su razvijene razne vrste imunoterapije koje djeluju na različite načine pa ćemo ih ovdje pokušati sistematizirati i prikazati.

Imunoterapija se može podijeliti na aktivnu, koja podrazumijeva direktnu stimulaciju imunološkog sustava domaćina, i pasivnu, koja podrazumijeva unos gotovih *ex vivo* stvorenih imunološki aktivnih molekula i stanica. (Cavalli F et al. 1997)

1.1 PASIVNA IMUNOTERAPIJA

Ovaj oblik imunoterapije ne zahtjeva reakciju domaćinovog imunološkog sustava, već se temelji na unosu gotovih imunološki-aktivnih tvari. Pasivna imunoterapija uključuje unos monoklonalnih protutijela (mPT) ili unos gotovih rekombinantnih citokina koji pojačavaju imunološku reakciju. Posebna vrsta je prijenos senzibiliziranih limfocita u organizam i naziva se adoptivna imunoterapija. (Conniot J et al. 2014)

1.1.1 MONOKLONALNA PROTUTIJEJA

Ovaj oblik terapije se zasniva na primjeni već gotovih protutijela na razne tumorske antigene. Nazivaju se monoklonalna, jer su produkt jedne stanice i izrazito su specifična.

Postoji nekoliko mehanizama djelovanja, prvo mPT se mogu vezati za čimbenike rasta i neutralizirati ih. Ovako djeluje bevacizumab, humanizirano mPT koje se veže na VEGF, inhibira ga i sprječava neovaskularizaciju tumora i time danji rast tumorskog čvora. (Melnik O et al. 1999)

Vezanjem na receptor za čimbenik rasta, izražen na površini tumorske stanice, mPT zauzima i blokira to mjesto te sprječava vezanje čimbenika rasta i prijenos signala za diobu stanice do jezgre. Možda najpoznatije i najviše korišteno mPT ovoga tipa je trastuzumab (Herceptin) – mPT koje se veže na HER2 i time sprječava vezanje EGF i transdukciju signala za diobu stanica. Ova terapija je prvi puta odobrena za liječenje karcinoma dojke, ali danas se koristi i u liječenju drugih karcinoma. (Desautels D et al. 2014)

Osim toga, mPT se mogu vezati za tumorski antigen na površini i na taj način obilježiti tumorsku stanicu i svojom Fc komponentom pokrenuti nespecifičnu imunološku reakciju NK-stanica po tipu citotoksičnosti ovisne o protutijelima

(ADCC) i citotoksičnosti ovisne o komplementu (CDC). (Krishnamachari Y et al. 2011) Ovakva mPT se mogu smatrati imunoterapijom u užem smislu.

U zadnjem desetljeću ovaj oblik terapije je iznimno napredovao. Prvo mPT korišteno u terapiji je bilo mišje i zbog toga je bilo snižene djelotvornosti. Nakon toga razvijena su kimerična mPT te onda i humana mPT. Danas je ovo najčešće korišten oblik imunoterapije u liječenju neoplazmi, postoji veliki niz lijekova tog tipa registriranih dugo godina, te još mnogo novih u različitim fazama istraživanja. (Conniot J et al. 2014)

Potrebno je još spomenuti da se mPT mogu konjugirati s različitim molekulama i tako povećati njihova djelotvornost i smanjuje sistemna toksičnost, jer mPT osigurava da se aktivna molekula specifično dostavi do tumorske stanice. Postoje konjugati s radioaktivnim supstancama, citokinima, citotoksičnim tvarima te konjugati s enzimom i neaktivnim oblikom nekog lijeka. (Andreis I et al. 2010)

Na kraju, razvijena su i bispecifična i trispecifična mPT. Radi se o konjugatu dva ili tri mPT, jedno mPT je usmjereno protiv nekog specifičnog tumorskog antigena, a drugo protiv površinskog antigena karakterističnog za aktivirane upalne stanice, kao što su CD3 i CD19. Na taj način se osigurava kontakt između aktivirane upalne stanice i tumorske stanice. Ovakav pristup se aktivno ispituje u nekoliko kliničkih istraživanja, te su do sada dobiveni dobri rezultati u liječenju karcinoma dojke, B-NHL i Hodgkinovog limfoma. (Abeloff MD et al. 2008)

1.1.2 CITOKINI

Citokini su glikoproteini koje inače naš imuni sustav normalno proizvodi za kontrolu upalne reakcija. Različite molekule imaju različite uloge, one mogu započeti i pojačati imunoreakciju ili ju suprimirati. Danas se te molekule lako mogu sintetizirati modernim rekombinantnim tehnikama. U terapiji se najviše koriste interferoni, interleukini i čimbenici poticanja kolonija. *Interferoni α i β* potiču ekspresiju MHC molekula, imaju direktni citotoksični učinak na tumor, sprječavaju angiogenezu i potiču lučenje drugih citokina. (Cavalli F et al. 1997). Protutumorsko djelovanje citokina uglavnom se temelji na pojačavanju stanične imunološke reakcije. (Havranek EG et al. 2002)

Mogu se primjenjivati sistemno i lokalno u tumor, s ciljem postizanja veće koncentracije.

Čimbenik poticanja kolonija makrofaga i granulocita (GM-CSF) je citokin koji regulira preživljenje, proliferaciju i diferencijaciju granulocita i makrofaga. Pokazao se i kao potentan stimulator dendritičkih stanica na predočavanje tumorskih antigena. Provedeno je nekoliko istraživanje sa sistemskom primjenom GM-CSF među muškarcima s hormonski rezistentnim karcinomom prostate. U pacijenata je došlo do privremenog sniženja PSA, ali je ipak brzo došlo do progresije bolesti. Ovaj prvotni pad PSA pokazuje da GM-CSF ima biološki utjecaj na PSA, ali ne dovodi do klinički značajnih rezultata. (Rini BI & Small EJ 2003)

Provedena su i istraživanja u kojima su se citokini – *IL-2*, *IL-1β*, *GM-CSF*, *IFNγ* i *TNFα* primjenjivali direktno u karcinom prostate, ali ni ovaj način liječenja nije pokazao, niti sniženje serumskih koncentracija PSA, niti je imao utjecaja na preživljenje. (Harris DT et al 1999)

1.2 ADOPTIVNA IMUNOTERAPIJA

Ovakav pristup se temelji na unosu zrelih i *ex vivo* senzibiliziranih T-limfocita u organizam, kako bi te stanice napadale i uništavale tumorske. Za razliku od aktivne imunoterapije i cjepiva ovaj oblik terapije nije ovisan o aktivnosti domaćinovog imunološkog sustava.

Neki oblici adoptivne imunoterapije koji se koriste u klinici su se pokazali kao potencijalno rješenje u terapiji nekih tumora. Najbolji primjer je *graft-vs-leukemija* reakcija koja se javlja nakon transplantacije koštane srži donora za terapiju relapsa leukemije. (Fujiwara H 2014)

Mogu se izolirati i limfociti koji infiltriraju tumor (TILs), zatim se umnožiti *in vitro*, te potom vratiti bolesniku. (Conniot J et al. 2014) Eksperimentalnom primjenom ovakve terapije postignuta je potpuna remisija u 20% pacijenata s metastatskim melanomom. (Rosenberg SA et al. 2011)

T-limfociti se mogu različitim tehnikama genetičkog inženjeringa modificirati kako bi imali veću protutumorsku specifičnost i djelotvornost. (Fujiwara H 2014)

1.3 AKTIVNA IMUNOTERAPIJA

Aktivna imunoterapija, poznatija i kao tumorsko cjepivo temelji se na direktnoj stimulaciji imunološkog sustava. Za razliku od cjepiva protiv zaraznih bolesti, koja se uglavnom temelje na humoralnoj imunosti, tumorska cjepiva se temelje na stimulaciji stanične imunološke reakcije, i to najvažniju ulogu imaju CD8⁺ citotoksični limfociti (CTL). Tumorsko cjepivo bi trebalo inducirati imunološku reakciju koja će ili eliminirati sve maligne stanice ili spriječiti njihovu daljnju diobu, te time odgoditi progresiju bolesti i produžiti preživljenje. (Conniot J et al. 2014; Desautels D et al. 2014) Do nedavno ovakva terapija uglavnom nije pokazivala zadovoljavajuće rezultate, ali u zadnjih nekoliko godina, zajedno s novim saznanjima o imunološkoj reakciji na tumor razvijeni su i noviji i bolji oblici terapije. Postoje različite vrste cjepiva: *cjepiva na bazi dendritičkih stanica (DCs)*, *DNK cjepiva*, *virusna cjepiva*, *cjepiva od cijelih tumorskih stanica* i *rekombinantna proteinska cjepiva*. (Schweizer MT & Drake CG 2014) Istraživanja su pokazala da DCs imaju najvažniju ulogu u aktivaciji CTL, te su zato u mnogim istraživanjima baš one meta tumorski cjepiva. (Vacchelli E et al. 2012).

1.3.1 CJEPIVA NA BAZI DENDRITIČKIH STANICA

DCs su najpotentniji tip predodnih stanica koje aktiviraju naivne CD4⁺ i CD8⁺. Cjepivo se priprema tako da se leukaferozom iz periferne krvi izdvoje DCs, te se potom u staničnoj kulturi izlažu tumorskom antigenu i imunološkom adjuvansu i takve stanice se infuzijom vraćaju pacijentu. Prilikom izlaganja DCs tumorskom antigenu (TAAs), one se aktiviraju i postaju kompetentne aktivirati T-limfocite. Prema istraživanju (Silva JM et al. 2013) najbolja strategija je cijepljenje s imunogeničnim TAAs i najpotentnijim imunološkim adjuvansom. Ipak, većina novo otkrivenih TAAs je nedovoljne imunogeničnosti, što zahtjeva višestruku i ponovljenu aplikaciju terapije. 2010. je FDA je odobrila tumorsko cjepivo od DCs - Sipoleucel-T za liječenje karcinoma prostate. Sipoleucel-T je u kliničkim studijama faze III pokazao produženje preživljenje za 4,1 mjesec. (Kantoff PW et al. 2010)

1.3.2 VIRUSNA CJEPIVA

Virusna cjepiva sastoje se od plazmida s genima za tumorske antigene i kostimulatorne molekule, koji su umetnuti u virusni vektor. Kao virusni vektor najčešće služi *poxvirus*. (Arlen PM et al. 2007). On inficira epitelne stanice domaćina koje prilikom lize oslobađaju tumorske antigene plazmida te potom predočne stanice obrađuju i predočuju te antigene. (Schweizer MT & Drake CG 2014) Ovakva cjepiva, u teoriji bi se koristila u sistemskom liječenju tumora. Ona potiču imunološku lizu tumorske stanice i sprječavaju daljnji rast tumora, kao takve ih se ne smije zamijeniti s virusnim cjepivima koja se koriste u sprječavanju nastanka tumora. Već neko vrijeme koristi se cjepivo protiv HPV kao preventivna mjera za razvoj karcinoma cerviksa.

Znanstvenici su pokušali razviti i virusno cjepivo za liječenje karcinoma cerviksa. Uočeno je da su dva HPV proteina - E6 i E7 često izražena na stanicama karcinoma cerviksa, zato je konstruirano rekombinantno živo cjepivo TA-HPV, koje čini *vaccinia virus* s E6 i E7 proteinima. U studiji faze I/II na 8 žena sa proširenim karcinomom cerviksa dokazana je sigurnost primjene TA-HPV. Protutijela na E6 i E7 dokazana su 3 od 8 žena, a klinička korist dokazana je u jedne ispitanice. Ovi rezultati pokazuju potrebu za daljnjim istraživanjima. (Borysiewicz LK et al. 2003) Najnovije studije ispituju intratumorsku primjenu TA-HPV nakon terapije cisplatinom i rezultati su obećavajući, ali također zahtijevaju daljnja istraživanja. (Lee SY et al. 2013) Postoji i moguća klinička korist TA-HPV u liječenju karcinoma vulve i vagine koju potvrđuju rezultati studije faze II na 12 žena sa HPV-pozitivnom vulvarnom ili vaginalnom intraepitelnom neoplazijom (VIN i VaIN). (Baldwin PJ et al. 2003; Bilusic M et al. 2011)

1.3.3 CJEPIVA OD CIJELIH TUMORSKIH STANICA

Pretklinička istraživanja su pokazala da tumorske stanice, kada su transducirane s genima za citokine ili kostimulatorne molekule, mogu služiti za imunizaciju životinja i zaštitu od razvoja tumora.

Mogu se koristiti autologne i alogene tumorske stanice. Prilikom pripreme autolognog cjepiva, tumorske stanice se prikupljaju se prilikom biopsije ili operacije, uzgajaju se u kulturi i raznim molekularnim metodama se modeliraju tako da izlučuju velike količine imunoloških adjuvansa. Prije nego

što se vrate pacijentu stanice se ozrače, kako bi se onespobile za metastaziranje (Havranek EG et al. 2002).

Alternativni pristup je korištenje alogenih cjepiva koja se rade od tumorskih staničnih linija istog tumora. Ovaj pristup ima smisla jer je dokazano da mnogi tumori zapravo imaju iste genetičke lezije i antigene. (Hrouda D et al. 1999) Dodatna prednost je reakcija odbacivanja koja osigurava da će imunološki sustav domaćina reagirati na cjepivo i uništiti alogene tumorske stanice, te tako reagirati i na tumorske antigene i na strane MHC molekule. (Blades RA et al. 1995) Ipak, u kliničkoj primjeni ova metoda liječenja nije dala očekivane rezultate.

1.3.4 DNA CJEPIVA

DNA cjepiva su sami plazmidi koji kodiraju TAAs. Oni se apliciraju subkutano ili intramuskularno, na mjestu injekcije ulaze u stanice domaćina, najčešće miocite ili keratocite, te onda te stanice eksprimiraju tumorske antigene. Prednost ovakvoga cjepiva je vrlo jednostavna konstrukcija, ali se smatraju manje imunogeničnim od ranije navedenih vrsta cjepiva i zato je potrebno češće provoditi imunizaciju. (Alam S & McNeel DG 2010)

1.3.5 REKOMBINANTNA PROTEINSKA CJEPIVA

Tumorski antigen se mora izolirati i definirati, te onda rekombinantnim tehnikama prirediti kao antigenični peptid, koji se može koristiti kao cjepivo. Provedene su studije u kojima su se koristili tumorski antigeni PSA i PSMA u obliku proteinskog cjepiva, no obje studije nisu dale relevantne rezultate. (Rini BI & Small EJ 2003)

2 LIJEČENJE KARCINOMA PROSTATE

Karcinom prostate je jedan od najčešćih malignih oboljenja muškaraca u Hrvatskoj i svijetu, a po uzroku smrti od malignih bolesti muškaraca se smjestio na treće mjesto. Svake godine u Hrvatskoj se dijagnosticira preko 1700 novih slučajeva, a godišnje umire oko 700 muškaraca od te bolesti. (HZJZ 2012). Klinički su pacijenti često bez simptoma, te se bolest otkrije zbog povišenih vrijednosti PSA u serumu na redovitom pregledu. Preporuka je da se vrijednosti PSA u serumu rutinski određuju u muškaraca starijih od 50 godina ili starijih od 45 s pozitivnom obiteljskom anamnezom.

Odluka o liječenju se donosi na osnovu vrijednosti PSA, stupnja diferenciranosti po Gleasonovom zbroju i TNM-klasifikacije.

Normalna prosječna vrijednost PSA u serumu je 4ng/ml. Bitno je pratiti i dinamiku porasta PSA u serumu, porast za 50% ili više u godinu dana može upućivati na postojanje karcinoma.

Klinički se stadij bolesti određuje prema TNM-klasifikaciji (Tablica 1.) koja se temelji na digitorektalnom pregledu i slikovnoj dijagnostici. (Pasini J 2001) (Mohler JL et al. 2015)

Nadalje, ovisno o Gleasonovom zbroju, TNM stadiju i vrijednosti PSA bolesnici se razvrstavaju u prognostičke skupine. Gleasonov zbroj ima najvažniju prognostičku vrijednost. (Tablica 2.)

Postoje tri osnovna pristupa liječenju: pozorno čekanje, aktivno praćenje i aktivno liječenje.

Tablica 1. - TNM klasifikacija za karcinom prostate prema (Solarić M et al. 2013)

TNM KLASIFIKACIJA		
<i>Tumor (T)</i>		
Tx		Primarni tumor se ne može dokazati
T0		Nema znakova primarnoga tumora
T1		Klinički neprimjetan tumor
	T1a	Slučajan nalaz u <5% reseciranog tkiva
	T1b	Slučajan nalaz u >5% reseciranog tkiva
	T1c	Tumor dijagnosticiran biopsijom iglom
T2		Tumor ograničen na prostate
	T2a	Tumor obuhvaća polovinu jednog režnja ili manje
	T2b	Tumor obuhvaća više od polovine jednog režnja, ali ne oba
	T2c	Tumor obuhvaća oba režnja
T3		Tumor proširen izvan kapsule prostate
	T3a	Izvankapsularna proširenost
	T3b	Tumor proširen na sjemenske mjehuriće
T4		Tumor fiksiran ili proširen na okolne strukture osim sjemenika
<i>Regionalni limfni čvorovi (rlč) (N)</i>		
Nx		Prisutnost metastaza u rlč ne može se utvrditi
N0		Nema metastaza u rlč
N1		Metastaze u rlč
<i>Udaljene metastaze (M)</i>		
M0		nema udaljenih metastaza
M1		prisutne su udaljene metastaze
	M1a	u ne-rlč
	M1b	u kosti
	M1c	u ostala sijela s koštanim metastazama ili bez

Tablica 2. - Rizične skupine prema (Solarić M et al. 2013)

RIZIČNA SKUPINA	
<i>Klinički lokalizirana bolest</i>	
VRLO NISKI RIZIK	T1c i Gleasonov zbroj <6 i PSA <10ng/mL i manje od 3 cilindra pozitivna i <50% raka u bilo kojem cilindru i PSA-gustoća <0,15ng?mL?g
NISKI RIZIK	T1-t2a i Gleasonov zbroj < 6 i PSA <10ng?mL
SREDNJI RIZIK	T2b-T2c ili Gleasonov zbroj 7 ili PSA 10-20ng/mL
VISOKI RIZIK	T3a ili Gleasonov zbroj 8-10 ili PSA >20ng?ml
<i>Klinički lokalno uznapredovala bolest</i>	
VRLO VISOKI RIZIK	T3b-T4
<i>Metastatska bolest</i>	
bilo koji T ili bilo koji N i M1	

2.1 POZORNO ČEKANJE

Pozorno čekanje podrazumijeva praćenje bolesnika bez kontrolne dijagnostičke obrade, liječenju se pristupa ako se pojave simptomi. Indicirano je u bolesnika bez udaljenih metastaza s očekivanim trajanjem života kraćim od 5 godina, PSA < 50ng/mL i vremenom udvostručenja PSA dužim od 12 mjeseci. (Solarić M et al. 2013)

2.2 AKTIVNO PRAĆENJE

Aktivno praćenje podrazumijeva praćenje bolesnika uz periodičnu kontrolnu dijagnostičku obradu, te radikalni terapijski pristup u slučaju progresije bolesti. Ovakav pristup opravdan je u pacijenata s očekivanim trajanjem života manjim od 10 godina i niskim rizikom za razvoj bolesti, te pacijenata s očekivanim trajanjem života kraćim od 20 godina i vrlo niskim rizikom za razvoj bolesti. (Solarić M et al. 2013) (Pasini J 2001)

2.3 AKTIVNO LIJEČENJE

Aktivno liječenje uključuje prostatektomiju, radioterapiju, hormonsku terapiju i kemoterapiju. Indicirano je u bolesnika s višim stadijem bolesti u kojih nije opravdano aktivno praćenje ili pozorno čekanje.

2.3.1 PROSTATEKTOMIJA

Radikalna prostatektomija indicirana je u pacijenata sa klinički lokaliziranom bolesti i očekivanim trajanjem života dužim od 5 godina. Uključuje odstranjenje cijele prostate i resekciju sjemenskih mjehurića zajedno s okolnim tkivom, kako bi se osigurao tumorski negativan resekcijski rub. Danas se najčešće koristi retropubični pristup, jer osigurava postoperativno održan anatomske integritet koji je bitan za erektilnu funkciju i kontinenciju. (Walsh PC & Donker PJ 1982) U bolesnika nakon prostatektomije s tumorski zahvaćenim zdjeličnim limfnim čvorovima indicirana je adjuvantna hormonska terapija LH-RH agonistima tijekom barem 24 mjeseca.

2.3.2 RADIOTERAPIJA

Radioterapija se češće primjenjuje u starijih muškaraca, lošijega zdravlja, koji imaju veći rizik i viši stadij bolesti. (Abeloff MD et al. 2008) Danas se koriste eksternalna radioterapija - 3D konformalna radioterapija (3D-CRT) i brahiterapija. 3D-CRT koristi CT snimke kako bi se kompjuterskom obradom osigurala dostava visokih kumulativnih doza u tumorsko tkivo s minimalnim štetnim učincima na okolno tkivo. U pacijenata s niskim rizikom preporučuje se doza od barem 74Gy, a u onih sa srednjim i visokim rizikom 81Gy. (Mohler JL et al. 2015) U svih zračenih bolesnika indicirana je neoadjuvantna, konkomitantna ili adjuvantna hormonska terapija LH-RH agonistima tijekom barem 24 mjeseca uz flutamid ili bikalutamid. (Solarić M et al. 2013)

Brahiterapija je oblik liječenja u kojem se izvor radioaktivnog zračenja implantira direktno u tumor, na taj način se osigurava visoka doza zračenja u tumorskom tkivu, uz malu toksičnost. Radioaktivan izvor postavlja se u prostatu pomoću transrektalnog ultrazvuka. Ovaj način liječenja koristi se samo u klinički lokaliziranoj bolesti. Tipično procedura traje 2 sata i pacijent je pod spinalnom anestezijom, pa cijela procedura ne zahtijeva boravak u bolnici i omogućava pacijentu brži povratak uobičajenoj svakodnevici.

Radioterapija i radikalna prostatektomija ravnopravni su postupci u radikalnom liječenju bolesnika. Nema dokaza koji bi dali prednost jednom od ovih postupaka. Odabir liječenja treba temeljiti na komorbiditetu te raspraviti s bolesnikom prednosti i nedostatke oba načina liječenja.

2.3.3 SISTEMSKA TERAPIJA

Poznato je da su tumorskim stanicama za rast i diferencijaciju potrebni androgeni pa se ta činjenica koristi u terapiji. (Huggins C et al. 1941). Cilj hormonske terapije je smanjiti razinu testosterona u serumu ili prostati i time suprimirati androgenu stimulaciju stanica karcinoma prostate. Hormonska terapija obuhvaća kiruršku i farmakološku kastraciju, estrogene, gestagene i antiandrogene. Različiti načini liječenja mogu se i kombinirati kako bi se postigla kompletna androgena blokada (CAB). Kirurška ili farmakološka androgena deprivacija u većine bolesnika zaustavlja bolest 12-33 mjeseca.

Bilateralna ohridektomija brzo snižava produkciju testosterona na 5-10% normalnih vrijednosti, no radi se o ireverzibilnom načinu liječenja. Ona je terapija izbora u pacijenata s teškim simptomima.

Od medikamenata, estrogene su se prvi upotrebljavali. Glavna im je zamjerka niz neželjenih učinaka, osobito na kardiovaskularni sustav.

Gestageni kao prva linija terapije manje su učinkoviti od estrogena ili kastracije.

Danas se najviše koriste LHRH-agonisti. Oni djeluju na razini hipotalamusa i hipofize suprimirajući stvaranje LH, te time i testosterona. Prvotno stimuliraju lučenje LH, ali nakon dugotrajne primjene smanjuju razine LH i testosterona u serumu. Potrebno je oko 3 do 4 tjedna da bi se razina testosterona spustila na 5 do 10% normalne razine. Klinička istraživanja u kojima su se uspoređivala bilateralna ohridektomija i LHRH-agonisti pokazala su jednake rezultate u liječenju, zato se danas, zbog praktičnosti, reverzibilnosti i težnje prema konzervativnijim načinima liječenja daje prednost LHRH-agonistima. (Abeloff MD et al. 2010) (Mohler JL et al. 2015)

Antiandrogeni djeluju na periferna tkiva, natječući se s androgenima za vezno mjesto na androgenim receptorima. Dijele se u dvije skupine: steroidni antiandrogeni (*ciproteron acetat*, *medroksiprogesteron acetat*) i nesteroidni antiandrogeni (*flutamid*, *bikalutamid*, *nilutamid*). Mogu se koristiti u monoterapiji, što često to dovodi do pojave niza neželjenih učinaka kao što su ginekomastija, osteoporoza i povišen kardiovaskularni rizik. Također, randomizirane prospektivne studije su pokazale da je monoterapija antiandrogenima inferiorna ostalim načinima androgene deprivacije. (Iversen P et al. 2000)

Zaključno, prva linija hormonske terapije metastatske bolesti je kompletna hormonska blokada koja se postiže: bilateralnom ohridektomijom ili kontinuiranom primjenom LHRH-agonista u kombinaciji s nesteroidnim antiandrogenima.

Većina pacijenata na kraju ipak progredira do stadija rezistentnog na kastraciju (CRPC), odnosno hormonski neovisnog o androgenima. Hormonski neovisan tumor znači da se tumor razvija usprkos kastracijskoj razini testosterona s porastom PSA ili bez njega. Porastom PSA smatraju se tri uzastopna nalaza povišenog PSA u razmaku od po tjedan dana, uz rast u 2

navrata barem za 50% i minimalnu vrijednost PSA od 2 ng/mL nakon II. linije hormonske terapije uz kastracijske vrijednosti testosterona (1,7nmol/L). (Mottet N et al. 2011) U simptomatskih bolesnika s visceralnim presadnicama valja primijeniti docetaksel i predinzon do progresije ili neprihvatljive toksičnosti uz procjenu učinka nakon svaka 3 ciklusa. U asimptomatskih bolesnika valja primijeniti abirateron i predinzon. U bolesnika s koštanim presadnicama valja uvesti zolendronat zajedno s vitaminom D i pripravcima kalcija. Unatoč agresivnoj terapiji, prognoza pacijenata na terapiji docetakselom u ovom stadiju bolesti je loša, medijan preživljenja je manji od 2 godine. Do nedavno, ovi pacijenti nisu imali alternativu nakon prestanka djelovanja docetaksela, ali unazad nekoliko godina došlo je do velikog napretka u liječenju CPRC sa enzalutamidom, cabazitakselom, abirateron-acetatom i radij-223. (Horrowicha A et al. 2013) Svi navedeni lijekovi imaju dokazane pozitivne učinke u liječenju mCPRC u studijama faze III. Primjenom ovih lijekova nakon terapije docetakselom medijan preživljena produžio se na više od 20 mjeseci. (Gerritsen WR & Sharma P 2012) Tablica 3. prikazuje popis studija koje su u proteklih par godina napravile velike pomake u liječenju CPRC.

Tablica 3. Lijekovi koji su u studijama faze III pokazali produženi OS u pacijenata s mCRPC (Silberstein JL et al. 2013)

STUDIJA	LIJEK	BROJ	PREŽIVLJENJE (MJ)	OMJER RIZIKA (HR)
TROPIC	Cabazitaksel (iv)/predinzon vs mitoksantron/predinzon	755	15,1 vs 12,7	0,70
COU-AA-301	Abirateron (oralno)/predinzon vs placebo/predinzon	1195	14,8 vs 10,9	0,65
COU-AA-302	Abirateron/predinzon vs placebo/predinzon	1088	NR vs 27,2	
AFFIRM	Enzalutamid (oralno) vs placebo	1199	18,4 vs 13,6	0,70
IMPACT	Sipoleuce-T (iv) vs kontrola	512	25,8 vs 21,7	0,78
ALSYMPCA	Radium-223 (iv)/BSC vs placebo/BSC	921	14,9 vs 11,3	0,63

U travnju 2010. Sipoleucel T je prvi oblik imunoterapije odobren od FDA za liječenje CRPC. Provedena je multicentrična, randomizirana, dvostruko slijepa studija na 512 pacijenata s CRPC randomiziranih 2:1 u skupinu koja prima Sipoleucel T i placebo. Tretman Sipoleucel T rezultirao je u sniženju rizika za mortaliteta za 22% (HR: =,75; 95%CI: 0,61-0,98; P=,03) (Kantoff PW et al. 2010)

Bolesnike s metastatskom bolesti kontrolira se svakih 3-6 mjeseci. Potrebno je odrediti razinu PSA u serumu, te napraviti detaljan fizikalan pregled i drp. Slikovne i ostale pretrage indiciraju se prema potrebi. (Mohler JL et al. 2015)

3 PRIMJENA IMUNOTERAPIJE U LIJEČENJU KARCINOMA PROSTATE

Kao što je u prijašnjem poglavlju izloženo, lokalizirani oblici karcinoma prostate dobro se liječe kirurški i radioterapijom. U terapiji proširenog oblika bolesti koristi se hormonska terapija, no dio pacijenata ipak napreduje u stadij bolesti neovisan o androgenima, odnosno neovisan o kastraciji, koji je za sada još uvijek neizlječiva bolest. Imunoterapija se tu pokazala kao atraktivna alternativa kemoterapiji u određenim podskupinama pacijenata. (Lawrence F & Small EJ 2007) Do sada su istraživani različiti pristupi i oblici imunoterapije. Najbolje rezultate i potrebu za daljnjim istraživanjima pokazala su tumorska cjepiva i modulacija funkcije T-limfocita kontrolnih imunoloških receptora kao što je CTLA-4. (Quinn DI et al. 2014)

3.1 IMUNOLOŠKE KARAKTERISTIKE KARCINOMA PROSTATE

Desetljeća istraživanja dokazala su da su stanice karcinoma prostate imunogene. Najbolji dokaz je nalaz infiltracije imunološkim stanicama u samom karcinomu prostate. Imunohistološka testiranja su pokazala da se radi o CD4+ T-limfocitima, CD8+ T-limfocitima, NK-stanicama i dendritičkim stanicama. Također je uočeno da je veća gustoća infiltracije T-limfocitima povezana s većom stopom preživljenja. Usporedbom stupnja infiltracije imunološkim stanicama i gradusom tumora, utvrđeno je da je viši gradus tumora povezan s nižim stupnjem infiltracije. (Vesalainen S et al. 1994)

Neke ranije studije su dokazale da je veća infiltracija CD4+ T-limfocitima povezana s lošijom prognozom, ali danas se vjeruje da je većina tih limfocita zapravo regulatorne T-stanice (Tregs), koje suprimiraju imunološku reakciju. Uočeno da je da je povišen udio ovih stanica u imunološkom tumorskom infiltratu povezan s letalnijim oblicima bolesti. (Wan-Chi Tse B et al. 2014)

Povišena infiltracija tumora NK-stanicama također je povezana s nižim rizikom za progresiju bolesti. Iz čega se može zaključiti da i NK-stanice imaju protektivnu ulogu u karcinomu prostate u ljudi. (Gannon PO et al. 2009)

Poznato je da tumorske stanice razviju brojne patofiziološke mehanizme kako bi izbjegle imunološkoj kontroli i na taj način doprinose invazivnosti i progresiji tumora. Vjeruje se da je ključ uspjeha imunoterapije otkrivanje i

inhibicija ovakvih mehanizama. U karcinomu prostate najznačajni su sljedeći mehanizmi: supresija prezentacije antigena i razaranja tumorskih stanica od strane citotoksičnih T-limfocita koja se postiže sniženom ekspresijom HLA-1 i beta-2-mikroglobulina; indukcija smrti T-stanica koja se postiže ekspresijom Fas liganda, induktora apoptoze, na površini tumorskih stanica; proizvodnja imunosupresivnih citokina kao što su TGF- β i IL-10 i regrutacija imunosupresivnih stanica kao što su Tregs. (Miller AM & PISA P 2007)

3.1.1 TUMORSKI ANTIGENI PROSTATE

Imunoterapija se uglavnom temelji na poticanju vlastitog imunološkog organizma na prepoznavanje tumorskih antigena kao stranih i uništavanje tumorskih stanica koje prezentiraju iste. Zato ćemo ovdje opisati tumorske antigene prostate koji se kroz literaturu spominju kao glavne mete imunoterapije.

3.1.1.1 PROSTATA SPECIFIČNI ANTIGEN – PSA

PSA je glikoprotein koji se sastoji od 237 aminokiselina. Izlučuju ga epitelne stanice prostate i duktalne stanice dojke. (Wang MC et al. 1979) PSA je povišen u karcinomu prostate, te je zato važan tumorski marker za dijagnozu i praćenje.

Provedena je klinička studija faze I s ciljem istraživanja djelotvornosti rekombinantnog PSA virusnog cjepiva. 33 muškarca s biokemijski dokazanom progresijom bolesti nakon prostatektomije primili su 3 mjesečne doze cjepiva. 10 ispitanika je i 4 dana primalo GM-CSF u periodu vakcinacije. Cjepivo se pokazalo sigurno za lokalnu primjenu. 14 ispitanika imalo je stabilne razine PSA 6 mjeseci nakon vakcinacije, 9 ispitanika bilo je stabilno 11 do 25 mjeseci, a 6 ispitanika je bilo bez progresije, uz stabilne razine PSA. Imunološka ispitivanja su pokazala da se u ispitanika razvila specifična T imunološka reakcija. (Eder JP et al. 2000) Rađeno je još nekoliko sličnih studija, ali ni one nisu uspjele dokazati objektivnu kliničku korist u liječenju.

Dendritičke stanice s mRNA koji kodira za PSA također su korištene u liječenju karcinoma prostate. 13 pacijenata je cijepljeno, u svih je došlo do razvoja specifične T imunološke reakcije, ali je klinička korist ostaje upitna. (Heisner A et al. 2002)

Razvijena su i bispecifična protutijela na PSA i CD3. Ova protutijela bi trebala usmjeriti već aktivirane mononuklearne stanice iz krvi na lizu tumorski stanica s PSA. Njihova učinkovitost je dokazana u *in vitro* i *in vivo* u miševa. Da bi se dokazala učinkovitost u ljudi potrebno je napraviti dodatne studije. (Katzenwadel A et al. 2000)

3.1.1.2 PROSTATA-SPECIFIČNI MEMBRANSKI ANTIGEN (PSMA)

PSMA je transmembranski glikoprotein, produkt je epitelnih stanica prostate i ima ulogu proteaze. Ekspimiran je u primarnom i metastatskom karcinomu prostate, te je ekspresija povišena nakon androgene deprivacije. U *in vitro* studijama PSMA je identificiran kao potencijalno važan antigen.

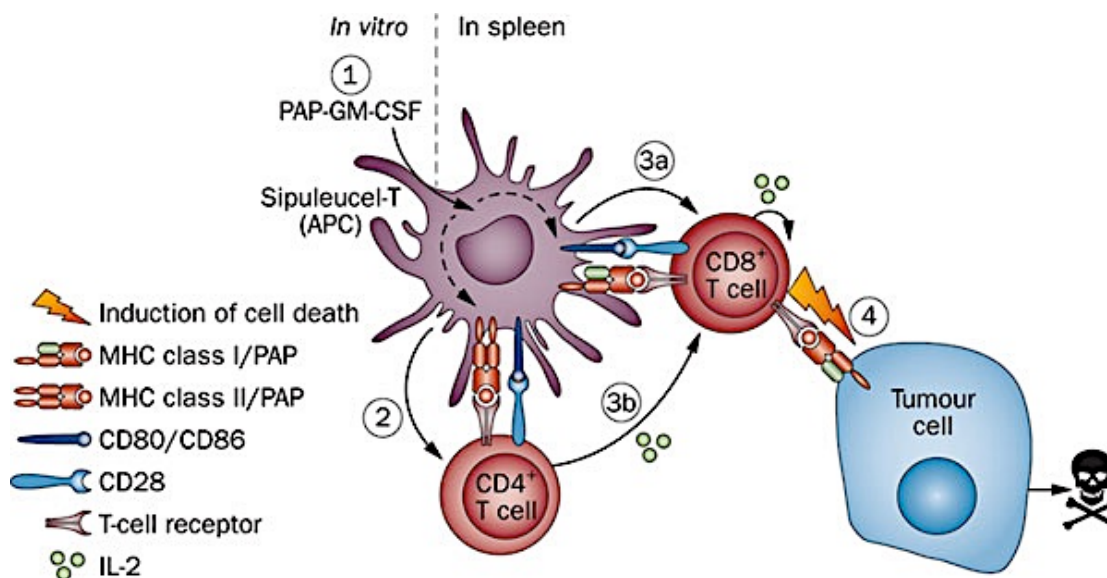
Dendritičke stanice koje predočavaju PSMA korištene su u terapiji 31 pacijenta s CRPC u kliničkom istraživanju faze I/II. Rezultati istraživanja su pokazali odgođenu progresiju bolesti u odnosu na kontrole, te je u 82% pacijenata dokazana razvijena specifična imunološka reakcija na PSMA. (Lawrence F & Small EJ 2007)

Istraživani su i drugačiji imunoterapijski principi liječenja. 26 pacijenata u različitim stadijima bolesti bili su uključeni u studiju u kojoj su neki bili imunizirani s DNA cjepivom koje nosi gen za ekstracelularnu domenu PSMA, neki s adenovirusnim vektorom sa PSMA, a neki s oboje. Dio pacijenata je primio i GM-CSF. Imunološki odgovor je potvrđen u većine, što dokazuje da je moguće indukcija T-stanične imunoreakcije na PSMA. No, neadekvatan odabir ispitanika otežava objektivnu interpretaciju klinički rezultata. (Lawrence F & Small EJ 2007)

3.1.1.3 PROSTATA KISELA FOSFATAZA (PROSTATE ACID PHOSPHATASE – PAP)

PAP je glikoprotein koji sadrži 354 aminokiseline. Specifičan je produkt prostate i važan je sastojak sperme. Ovaj antigen koristi se u konstrukciji lijeka Sipoleucel T (*Provenge*, Dendreon Corporation, Seattle, WA). Ovo je prvi i, za sada, jedini oblik tumorskog cjepiva koji je pokazao kliničku korist, te je 2010. godine odobren od FDA-a za liječenje metastatskog hormonski rezistentnog karcinoma prostate.

Sipoleucel-T čine autologne predočne stanice inkubirane s rekombinantnim fuzijskim proteinom, koji se sastoji od humanog PAP i GM-CSF. Apliciraju se putem infuzije u 3 ciklusa u razmaku od 2 tjedna.



Slika 1. Mehanizam djelovanja Sipuleucel-T (Geary SM et al. 2013)

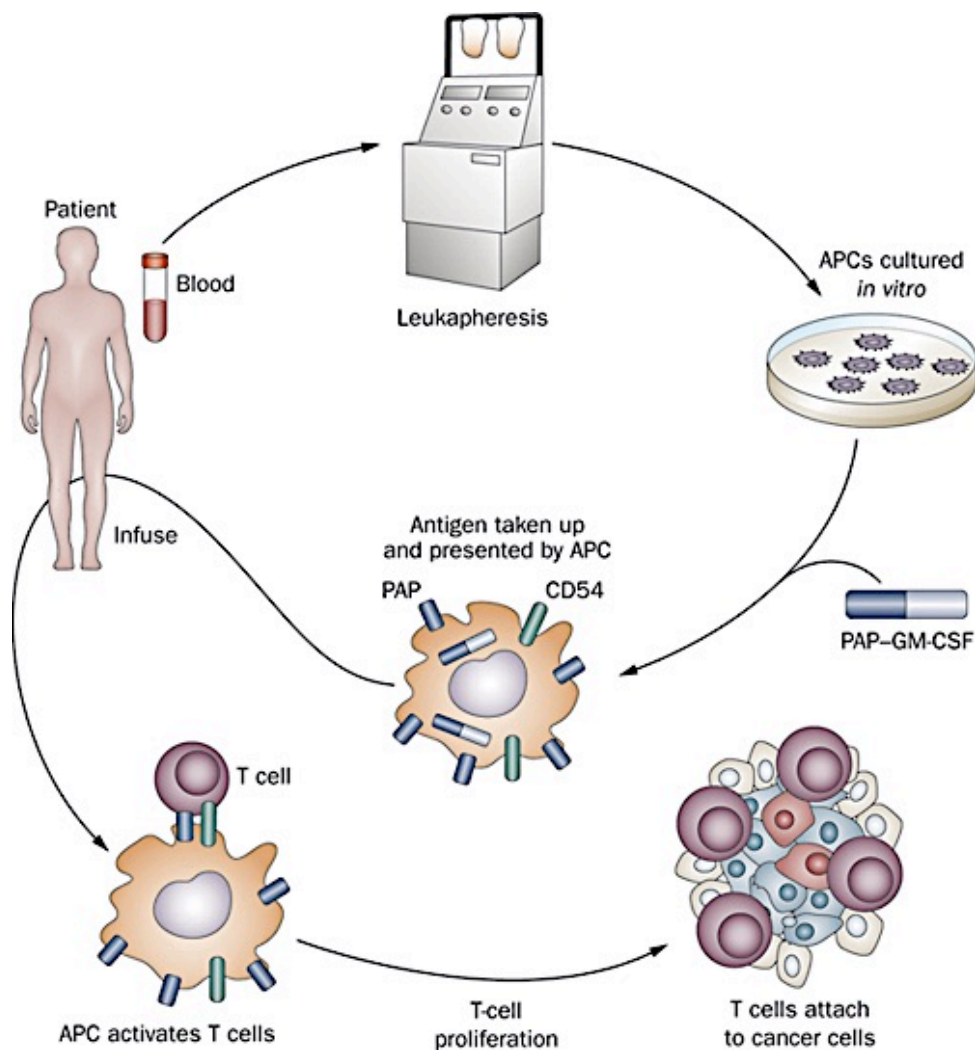
3.2 KLINIČKA PRIMJENA IMUNOTERAPIJE U LIJEČENJU KARCINOMA PROSTATE

3.2.1 SIPOLEUCEL-T

Sipoleucel-T je tumorsko cjepivo, koje se sastoji od autolognih mononuklearnih stanica iz periferne krvi (PBMCs), točnije antigen prezentirajućih stanica (APCs), koje se u *in vitro* uvjetima aktiviraju s rekombinantnim fuzijskim proteinom PA2024. Taj fuzijski protein sastoji se od antigena prostate PAP i GM-CSF-a (Kantoff PW et al. 2010) PAP je antigen specifičan za prostatu i ima ulogu usmjeriti upalne stanice na lizu tumorski stanica prostate. GM-CSF je molekula koja se veže na APCs i aktivira ih, odnosno potiče na sintezu drugih upalnih citokina i kostimulatornih molekula. (Jubinsky PT et al. 1994)

Priprema cjepiva je strogo kontroliran i koordiniran proces. Cjepivo se pacijentima daje u 3 ciklusa u međusobnom razmaku od dva tjedna (0,2,4 tjedna), tako da cijeli tretman traje 4 tjedna. Svaki ciklus ima dvije faze. Prvo se leukaferozom prikupe stanice periferne krvi, te se one nezamrznute šalju u

laboratorij gdje se priprema cjepivo. Tamo se APCs u kulturi inkubiraju s rekombinantnim proteinom PA2024 36-48 sati. Za to vrijeme APCs obrađuju PA2024, te izlažu PAP antigen na svojoj površini. (Bilusic M et al. 2011) Nakon toga stanice se suspendiraju u Ringerovoj otopini, te se finalan produkt nakon 3 dana infuzijom vraća pacijentu. (Graff JN & Chamberlain ED 2015)



Slika 2. Priprema i primjena sipoleucel-T (Di Lorenzo G et al. 2011)

Mehanizam djelovanja nije u potpunosti razjašnjen, ali je poznato da se temelji na aktivaciji specifične stanične imunoreakcije. *Ex vivo* aktivirane APCs predočavaju cirkulirajućim naivnim T-limfocitima PAP antigen i potiču smrt stanica posredovanu T-limfocitima. (Graff JN & Chamberlain ED 2015) Otkriće koje je u bazičnim istraživanjima bilo ključno za razvoj Sipoleucela-T je pojava prostatitisa u miša imuniziranog s APCs, inkubiranim s

rekombinantnim fuzijskim proteinom štakorskog PAP i GM-CSF-a. (Laus R et al. 2001)

U studijama faze I i II koje su slijedile, Sipoleucel-T se pokazao sigurnim za primjenu u ljudi, a i preliminarni rezultati dokazali su kliničku djelotvornost. Važno je spomenuti da su ispitanici sa razvijenim staničnim ili humoralnim imunološkim odgovorom na PAP imali značajno duži medijan preživljenja od onih bez imunološkog odgovora (34 tjedna vs. 13 tjedana, $P < 0.027$). (Small E et al. 2000)

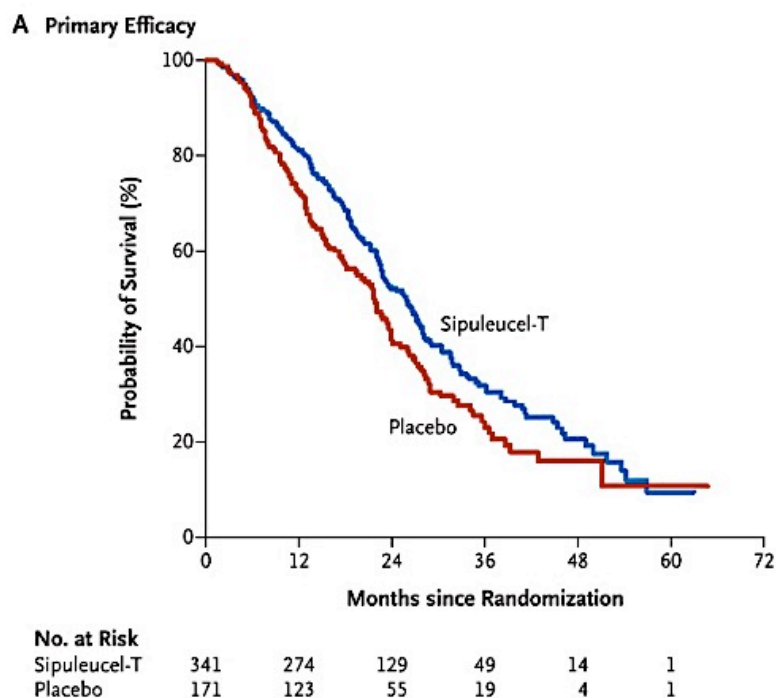
Zbog ovih obećavajućih rezultata, slijedile su 3 studije faze III, koje su u konačnici bile presudne za FDA-ovo odobrenje Sipoleucela-T.

U prvoj studiji (D9901), 127 ispitanika sa asimptomatskim mCPRC randomizirano je u dvije skupine. Kriteriji uključivanja su bili: očekivano trajanje života najmanje 3 mjeseca, ECOG 0-1, pozitivna imunohistokemija na PAP u bar 25% stanica, pacijenti nisu smjeli primiti više od 2 linije kemoterapije i zadnji ciklus je morao biti prije više od 3 mjeseca, bez patoloških fraktura, te je zadnje zračenje bilo prije više od godinu dana. 82 ispitanika primala su Sipoleucel-T, a kontrolna skupina od 45 ispitanika primila je samo normalne APCs. Za primarni ishod studije postavljeno je preživljenje bez progresije (PFS), no između dvije skupine nije bilo statistički značajne razlike. Ipak, dokazana je statistički značajna razlika za sekundarni ishod studije - ukupno preživljenje (OS). Skupina koja je primala Sipoleucel-T imala je značajno duži OS (25,9 mjeseci vs. 21,4 mjeseca). Dodatno, trogodišnje preživljenje je u skupini sa Sipoleucelom-T bilo 36%, u usporedbi sa kontrolnom skupinom 11% ($P = 0,005$) (Small EJ et al. 2006)

Druga studija (D9902A) s istim kriterijima uključivanja, također je uspoređivala djelotvornost Sipoleucela-T i placeba. Studija je ranije prekinuta i rezultati za 98 ispitanika pridruženi su i analizirani zajedno sa onima iz studije D9901. Rezultati za ukupno 225 pacijenata pokazali su produženi OS u testiranoj skupini u odnosu na kontrolnu (23,2 vs. 18,9). Rizik od smrti snižen je za 33% (HR 1,5%, 95% CI 1-2; $P = 0,0119$). (Higano CS et al. 2009) Izolirano rezultati za drugu studiju nisu pokazali statistički značajne razlike između dvije skupine.

Najveća studija poznata je pod imenom IMPACT (Immunotherapy for Prostate Adenocarcinoma Treatment). Radi se o dvostruko slijepoj, randomiziranoj,

multicentričnoj studiji. 512 pacijenata randomizirano je u omjeru 2: 1. Prva skupina (n=341) primala je Sipuleucel-T, a kontrolna skupina (n=171) samo APCs. Pacijenti su stratificirani po Gleasonovom zbroju, broju koštanih metastaza i trošenju bisfosfonata. Ovaj put kao primarni ishod studije definiran je OS. Rezultati su pokazali snižen rizik od smrti za 22% u skupini sa Sipolucel-T (HR 0,78; 95%CI 0,61-0,98; P=0,03). Medijan preživljenja u testiranoj skupini je duži za 4,1 mjesec. (25,8 vs. 21,7). Šansa za trogodišnje preživljenje u testiranoj skupini je 31,7%, a u kontrolnoj skupini 23% (HR 0,77; 95%CI 0,61-0,97; P=0,02). Slika 3. prikazuje Kaplan-Meierovu krivulju procjene OS iz IMPACT studije.



Slika 3. Kaplan-Meier krivulja procjene OS u IMPACT studiji (Kantoff PW et al. 2010)

Također, i u ovoj studiji PFS je bio približno jednak u obje skupine. Važno je napomenuti da je pozitivan terapijski učinak konstantan u svim stratificiranim podskupinama, pa čak i onim koje su povezane s lošijim ishodom, kao povišene razine PSA. Neželjeni učinci lijeka uglavnom su blaži, pojavljuju se u prva 24 sata nakon primjene, te se povlače unutar 48 sati. Pacijenti su se najčešće žalili na vrućicu, zimicu, tresavicu i glavobolju. (Kantoff PW et al. 2010)

Postavlja se pitanje zašto u sve tri studije nije bilo promjene u PFS između dvije skupine. Nagađanje je da Sipoleucel-T postupno usporava progresiju bolesti ili da ima kasni antitumorski učinak, što onda uzrokuje dugoročne učinke, kao produženje ukupnog preživljenja, ali kratkoročni učinci nisu vidljivi, pa tako ni produženje PFS. (Wan-Chi Tse B et al. 2014)

Trenutno su u tijeku razne studije faze IV. Provode se studije koje ispituju djelotvornost Sipoleucela-T u kombinaciji s drugim lijekovima: abirateronom i predinzonom, enzalutamidom i ipilimumabom. Također se ispituje i mogućnost primjene lijeka u ranijim fazama bolesti ili neoadjuvantna primjena lijeka i primjena u kombinaciji sa radioterapijom. Važno je napomenuti da terapija Sipoleucelom-T ne isključuje kasniju kemoterapiju. Cilj ovih studija je odrediti stadij bolesti i karakteristike pacijenata koji će imati najveću korist od ove terapije. (Graff JN & Chamberlain ED 2015)

3.2.2 IPILIMUMAB

Ipilimumab je anti-CTLA-4 monoklonoalno protutijelo. Mehanizam djelovanja je blokada imunosupresivnog CTLA-4, što dovodi do sprečavanja inaktivacije imunološke reakcije. FDA ga je 2011. odobrio za liječenje uznapredovalog melanoma. (Sondak VK et al. 2011) Trenutno se provodi niz studija kako bi se procijenila njegova učinkovitost u liječenju metastatskog CRPC, ne-malostaničnog karcinoma pluća (Tomasini P et al. 2012), metastatskog karcinoma bubrega (Yang JC et al. 2007) i jajnika. (Tse BW et al. 2014)

CTLA-4 je inhibitorski receptor na površini T-limfocita, on se natječe sa CD28, stimulatornim receptorom, za ligand - CD80. Vezanjem CD80 za CTLA-4 transducira se imunosupresivni signal u stanicu. (Chen L & Flies DB 2013) Važno je istaknuti da u svakoj upalnoj reakciji nakon aktivacije T-limfocita povećava ekspresija CTLA-4, s ciljem kontrole imunološke reakcije. Također, CTLA-4 receptor je izražen na Tregs stanicama, te je elementaran za njihovu imunosupresivnu ulogu. (Wing K et al. 2008)

U prekliničkim istraživanjima uporabom mišjih anti-CTLA-4 mPT uspješno je odgođena pojava tumora u TRAMP miševa (transgenični miševi koji spontano razvijaju karcinom prostate koji brzo metastazira u limfne čvorove). (Greenberg NM et al. 1995) U nastavku te studije uspješno je odgođena i

pojava metastaza. (Kwon ED et al. 1999) Ovi rezultati potakli su razvoj humanog anti-CTLA-4 mPT. Zadnja studije faze III, u kojoj se uspoređivala učinkovitost ipilimumaba i placeba nakon primjene radioterapije u pacijenata kojima docetaxel nije pomogao, nije dokazala značajne rezultate u OS. Ipak, PFS nakon 6 mjeseci je bio 30, 7% u skupini s ipilimumabom (95%CI 26-35,5), a 18,1% u placebo skupini (95%CI 26-35,3). Naknadna analiza podataka pokazala je veću korist i duži OS za pacijente koji su u početku imali bolju prognozu. Medijan OS takvih pacijenata u skupini s ipilimumabom je bio 22,7 mjeseci, a u placebo skupini 15,8 mjeseci. Ovi rezultati pokazuju potrebu za danjim istraživanjima u ranijim fazama bolesti ili u pacijenata s nižim rizikom. (Kwon ED et al. 2014) (Wan-Chi Tse B et al. 2014)

3.2.3 PSA-TRICOM (PROSTVAC- VF)

PSA-TRICOM je proteinsko cjepivo (PROSTVAC-VF, Bavarian Nordic, Kvistgaard, Denmark) koje se sastoji od dva poxvirusna vektora – *vaccinia virus* i *fowlpox virus*. Oba vektora sadrže transgene za humani PSA i tri kostimulatorne molekule za T-limfocite – b7.1, ICAM-1, LFA-3. (Madan RA et al. 2009) Do sada je završeno 8 studija faze I i II, te je PROSTVAC testiran na više od 300 ispitanika i u potpunosti je dokazana sigurnost primjene. (Mandl SJ et al. 2014) U studijama faze II dokazano je povećano ukupno preživljenje (OS) u odnosu na kontrolnu skupinu (25,1vs.16,6 mjeseci; P=0,006). (Kantoff PW et al. 2010a) Rezultati ove studije su pomalo nejasni, jer je kao primarni ishod studije određeno preživljenje bez progresije (PFS), a tu nije bila pronađena razlika između ispitanika i kontrole. Dodatno, razine PSA u serumu su bile nestabilne. Ipak ovi rezultati su doveli do otvaranja studije faze III (NCT01322490) s ciljem procjene da li PSA-TRICOM sa ili bez GM-CSF može produžiti OS u pacijenata s metastatskim CRPC koji ranije nisu primali kemoterapiju. (Quinn DI et al. 2014) Rezultati ove studije dati će više informacija o objektivnoj kliničkoj koristi ovog proteinskog tumorskog cjepiva.

3.2.4 GVAX

GVAX je cjepivo od alogenih tumorskih stanica, koje se sastoji od 2 linije humanih stanica karcinoma prostate – LNCaP (stanice dobivene iz metastatskog limfnog čvora, ovisne o androgenu) i PC3 (stanice iz koštane

metastaze, neovisne o androgenu). Obje linije stanica su genetski modificirane da luče velike doze GM-CSF. (Ward JE & McNeel DG 2007) Alogene stanice koriste se jer je jednostavnije i jeftinije pripremiti cjepivo, nego od autolognih stanica. (Wan-Chi Tse B et al. 2014)

U studiji faze II 80 muškaraca podijeljeno je u 3 skupine od kojih je svaka primala različite doze GVAX cjepiva. Rezultati su pokazali da je skupina koja je primila najvišu dozu lijeka povezana s najdužim OS (35 mjeseci), u usporedbi sa skupinama koja je primila srednje (20 mjeseci) i niske doze lijeka (23,1 mjesec). Ispitanicima je mjerena razina protutijela na tumorske stanice, rezultati su pokazali da su ispitanici koji su razvili protutijela na tumorske stanice imali medijan preživljenja 34 mjeseca, dok su oni bez razvijenih protutijela imali medijan preživljenja 16 mjeseci. (Higano SC et al. 2008) Nakon toga su rađene studije faze III – VITAL-1 i VITAL-2 , koje su uspoređivale terapiju GVAX-om i kombinaciju docetaxela i predinzona u pacijenata sa i bez simptoma. Obje studije su prekinute prije završetka zbog prevelikog broja umrlih i skraćenog OS. (Smal TD et al. 2006) (Higano CFS et al. 2009) Sada su u tijeku studije koje ispituju djelotvornost GVAX u kombinaciji sa drugim oblicima imunoterapije, kao što je Ipilimumab. (Schweizer MT & Drake CG 2014)

3.2.5 TASQUINIMOD

Tasquinimod je kinolon-3-karboksamid i spada u skupinu imunomodulatora. Svoju imunomodulatorsku ulogu ostvaruje djelovanjem na protein S100A9, produkt imunosupresivnih mijeloidnih stanica. Rezultati studije faze II, na ispitanicima s metastatskim CPRC, pokazali su da tasquinimod znatno usporava progresiju bolesti i produžuje PFS. Trenutno se provode studije faze III. (Quinn DI et al. 2014)

4 **BUDUĆNOST IMUNOTERAPIJE U LIJEČENJU KARCINOMA PROSTATE**

Kao što je prikazano u ranijim poglavljima, imunoterapije ima jasno mjesto i veliki potencijal u liječenju karcinoma prostate. Ipak, imunoterapija je tek u začetku, te kao i kod svakog novog pristupa, postoji još niz problema, dilema i pitanja koje treba odgovoriti danjim istraživanjima.

Jedno od najvažnijih pitanja koje se nameće je najbolje vrijeme i stadij bolesti u kojem treba krenuti s imunoterapijom. Naknadnim analizama dosadašnjih studija uočeno je da su veću korist od imunoterapije imali oni pacijenti, koji su u početku imali bolju prognozu, što dovodi do zaključka da bi imunoterapiju trebalo uvoditi ranije u terapiju. Studije se uglavnom provode na pacijentima s uznapredovalom bolesti, kod kojih ostali terapijski pristupi nisu imali učinka. Za učinkovitost imunoterapije važan je imunološki status pacijenata, koji su često imunosuprimirani zbog ranije primjene kemoterapije i kortikosteroida. (Quinn DI et al. 2014) Ovome u korist idu rezultati naknadne analize studije u kojoj je korišten Sipoleucel-T u terapiji, koji su pokazali da su pacijenti s nižom razinom PSA, i time vjerojatno manjim tumorskim opterećenjem, imali veću kliničku korist od onih sa višim razinama PSA, i vjerojatno većim tumorskim opterećenjem. (Schellhammer PF et al. 2013)

Drugo važno pitanje je postoji li način da se uspjeh liječenja poveća kombinacijom imunoterapije i nekog drugog oblika terapije. Postoje dokazi da sama hormonska terapija olakšava antitumorsku aktivnost imunološkog sustava (Gannon PO et al. 2009) Dodatno, smanjenje tumorskog opterećenja koji se postiže primjenom hormonske terapije, može povećati sposobnost imunološkog sustava u borbi protiv tumora, jer i sam tumor djeluje imunosupresivno. (Lindau D et al. 2013) Kombinacija u kojoj su pacijenti prvo primili Sipoleucel-T, potom enzalutamid pokazuje obećavajuću protutumorsku aktivnost, koja je u jednom slučaju dovela čak do potpunog povlačenja metastaza iz kosti, pluća i limfnih čvorova. (Mouraviev V et al. 2014) Kombinacija imunoterapije i citotoksičnih agensa također može biti učinkovita, pogotovo derivati platine, jer oni povećavaju imunostimulatornu sposobnost dendritičkih stanica i smanjuju imunosupresivnu sposobnost tumorskih stanica. (Lesterhuis WJ et al. 2011) Naravno, potrebno je ispitati i istovremenu primjenu više oblika imunoterapije. Zajedničkom primjenom različiti agensi

mogli bi djelovati sinergistički, te potaknuti jaču imunološku antitumorsku reakciju. Kombinacija koja postaje sve zanimljivija je Ipilimumab i Prostate-VF. U indukciji se koristi Ipilimumab, kako bi se osigurala adekvatna reakcija imunološkog sustava na tumorsko cjepivo Prostate-VF, koje se koristi u efektornoj fazi, sa ili bez dodatne doze Ipilimumaba. Studija faze I dala je ohrabrujuće rezultate za ovu kombinaciju. Muškarci tretirani sa oba agensa u prosjeku su imali OS od 34 mjeseca.

Dalje, bitna je racionalna primjena imunoterapije kako bi se iskoristila njena potpuna učinkovitost i kako bi se integrirala u kliničku praksu, zato je potrebno odrediti pacijente koji će imati najveću kliničku korist od liječenja imunoterapijom. Trenutno se pokušavaju odrediti objektivni predikativni čimbenici koji bi mogli liječnicima olakšati donošenje odluke o primjeni imunoterapije. Do sada su za predikativne biomarkere predloženi: apsolutni broj limfocita, aktivnost i diferenciranost T-limfocita. (Quinn DI et al. 2014)

Na kraju, trenutno se istražuje niz novih imunoloških lijekova, kako bi se olakšao razvoj, testiranje i uvođenje nove imunoterapije u kliničku praksu potrebno je promijeniti neke načine u procjeni kliničke učinkovitosti. U više dosadašnjih studija uočeno je da odgovor na imunoterapiju ima drugačiji uzorak od ostalih vrsta terapije koje se danas koriste. Osnovni mehanizam djelovanja imunoterapije je jačanje imunološkog sustava, što je ipak dulji proces i učinak ove terapije može biti odgođen. Ovo potvrđuje činjenica da je u više studija uočen produžen OS, što je posljedica dugoročnog djelovanja lijeka, ali ne PFS, što je kratkoročna posljedica. Suprotno imunoterapiji, citotoksični agensi direktno djeluju na tumor i pokazuju brzi učinak na rast i razvoj tumora, što se jasno vidi pomoću slikovnih metoda i produženog PFS. (Hoos A et al. 2010)

Imunoterapija pokazuje veliki potencijal u liječenju karcinoma prostate, no do sada je samo Sipuleucel-T pokazao objektivnu učinkovitost i našao svoje mjesto u smjernicama za liječenje mCRPC. Potrebna su brojna daljnja istraživanja kako bi se i drugi lijekovi počeli koristiti u liječenju, te kako bi se imunoterapija optimalno integrirala u kliničku praksu i kako bi se iskoristio njen puni potencijal u liječenju.

5 ZAHVALE

Zahvaljujem svojem mentoru, doc.dr.sc Borislavu Belevu, dr.med. što mi je pomogao u izradi ovog diplomskog rada.

6 POPIS LITERATURE

1. Abeloff MD, Armitage JO, Niederhuber JE, Kastan MB, & McKenna WG (2008) *Abeloff's Clinical Oncology*. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier.
2. Alam S, McNeel DG (2010) DNA vaccines for the treatment of prostate cancer. *Expert Rev Vaccine* 9 (7): 731-45.
3. Andreis I, Batinić D, Čulo F, Grčević D, Lukinović-Škudor V, Marušić M et al (2010) *Imunologija*. Zagreb: Medicinska naklada.
4. Arlen PM, Gulley JL, Madan RA, Hodge JW, & Schlom J (2007) Preclinical and clinical studies of recombinant poxvirus vaccines for carcinoma therapy. *Crit Rev Immunol* 27 (5): 451-62.
5. Baldwin PJ, van der Burg SH, Boswell CM, Offringa R, Hicking JK, Dobson J et al (2003) Vaccinia-expressed human papillomavirus 16 and 18 e6 and e7 as a therapeutic vaccination for vulval and vaginal intraepithelial neoplasia. *Clin Cancer Res* 9 (14): 5205-13.
6. Bilusic M, Heery C, & Madan RA (2011) Immunotherapy in prostate cancer: emerging strategies against a formidable foe. *Vaccine* 29 (38): 6485-6497.
7. Blades RA, Keating LJ, McWilliam PJ, Georg NJ, & Stern PL (1995) Loss of HLA class I expression in prostate cancer: implications for immunotherapy. *Urology* 82 (4): 681-6.
8. Borysiewicz LK, Fiander A, Nimako M, Man S, Wilkinson GWG, Westmoreland D et al. (2003) A recombinant vaccinia virus encoding human papillomavirus types 16 and 18, E6 and E7 proteins as immunotherapy for cervical cancer. *The Lancet* 347 (9014): 1523-1527.
9. Cavalli F, Hansen HH & Kaye SB (1997) *Textbook of Medical Oncology*. London: Martin Dunitz Ltd.
10. Chen L, & Flies DB (2013) Molecular mechanisms of T cell costimulation and co-inhibition. *Nature Reviews Immunology* 13 (4): 227-242.
11. Conriot J, Silva JM, Fernandes JG, Silva LC, Gaspar R, Brocchini S et al. (2014) Cancer immunotherapy: nanodelivery approaches for immune cell targeting and tracking. *Front Chem* doi: 10.3389/fchem.2014.00105.
12. Desautels D, Harols C & Czaykowski P (2014) The advent of precision therapy in gastrointestinal malignancies: Targeting the human epidermal growth factor receptor family in colorectal and esophagogastric cancer. *J Carcinog* doi: 10.413/1477-3163.145609.
13. Di Lorenzo G, Buonerba C & Kantoff PW (2011) Immunotherapy for the treatment of prostate cancer. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 8: 551-561.
14. Eder JP, Kantoff PW, Roper K, Xu GX, Bublej GJ, Boyden J et al. (2000) A phase I trial of a recombinant vaccinia virus expressing prostate-specific antigen in advanced prostate cancer. *Clin Cancer Res* 6 (5):1632-8.
15. Erlich P(1960) *Collected papers of Paul Erlich*. Oxford: Pergamon Press.
16. Fujiwara H(2014) Adoptive Immunotherapy for Hematological Malignancies Using T-cells gene-modified to express tumor antigen-specific receptors. *Pharmaceuticals* 7 (12): 1049-1068.
17. Gannon PO, Poisson AO, Delvoye N, Lapointe A, Mes-Masson A & Saad F(2009) Characterization of the intra-prostatic immune cell infiltration in androgen-deprived prostate cancer patients. *Journal of Immunological methods* 348 (1-2): 9-17.
18. Geary SM, Lemke CD, Lubaroff DM & Salem AK(2013) Proposed mechanisms of action for prostate cancer vaccines. *Nature Reviews Urology* 10: 149-160.
19. Gerritsen WR & Sharma P(2012) Current and emerging treatment options for castration-resistant prostate cancer: A focus on immunotherapy. *J Clin Immunol* 32: 25-35.
20. Graff JN & Chamberlain ED(2015) Sipuleucel-T in the treatment of prostate cancer: an evidence-based review of its place in therapy. *Core Evidence* 10:1-10.
21. Greenberg NM, DeMayo F & Finegold MJ(1995) Prostate cancer in a transgenic mouse. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 92 (8):3439-3443.

22. Harris DT, Matyas GR, Gomella LG, Talor E, Winship MD & Spitler LE (1999) Immunologic approaches to treatment of prostate cancer. *Semin Oncol* 26 (4): 455-71.
23. Havranek EG, Whelan MA, Greenhalg R, Dalgeish AG & Pandha H (2002) Advances in prostate cancer immunotherapy. *Sur Onc* 11: 35-45.
24. Heisner A, Coleman D, Dannull J, Yancey D, Maurice MA, Lallas CD et al. (2002) Autologous dendritic cells transfected with prostate-specific antigen RNA stimulate CTL responses against metastatic prostate tumors. *J Clin Invest* 109 (3): 409-17.
25. Higano CS, Aomer B & Curti B (2009) A phase III trial of GVAX immunotherapy for prostate cancer versus docetaxel plus prednisone in asymptomatic, castration-resistant prostate cancer (CPRC). *Proceedings of the ASCO Genitourinary Cancer Symposium*
26. Higano CS, Schellhammer PF & Small EJ (2009) Integrated data from 2 randomized, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trials of active cellular immunotherapy with Sipoleucel-T in advanced prostate cancer. *Cancer* 115 (16):3670-3679.
27. Higano SC, Corman JM & Smith DC (2008) Phase 1/2 dose escalation study of GM-CSF-secreting, allogenic, cellular immunotherapy for metastatic hormone-refractory prostate cancer. *Cancer* 113 (5):975-984.
28. Hoos A, Eggermont AM & Janetzki S (2010) Improved endpoints for cancer immunotherapy trials. *J Natl Cancer Inst* 102:1388-97.
29. Horowicha A, Huggosson J, de Reijke T, Wiefel T, Fizazi F & Kataja K (2013) Prostate cancer: ESMO Consensus Conference Guide-lines 2012. *Ann Oncol* (00):1-22.
30. Hrouda D, Perry M & Dalgleish AG (1999) Gene therapy for prostate cancer. *Seminars in Oncology* 26 (4):455-71.
31. Huggins C, Stevens RE & Hodges CV (1941) Studie on prostate cancer:II. The effects of castration on advanced carcinoma of the prostate gland. *Arch Surg* (43):209-222.
32. HZJZ (2012) Incidencija raka u Hrvatskoj 2010. Zagreb: Bilten 2012:35.
33. Iversen P, Tyrrell CJ & Kaisary AV (2000) Bicalutamide monotherapy compared with castration in patients with nonmetastatic locally advanced prostate cancer: 6.3 years of followup. *J Urol* (164):1579-1582.
34. Jubinsky PT, Laurie AS, Nathan DG, Yetz-Aldep J & Sieff CA (1994) Expression and function of the human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor receptor alpha subunit. *Blood* 84 (12):4174-4185.
35. Kantoff PW, Higano CS & Shore ND (2010) Sipoleucel-T Immunotherapy for Castration Resistant Prostate Cancer. *N Engl J Med* 363 (5):411-421.
36. Kantoff PW, Higano CS, Shore ND, Berger ER, Small EJ & Penson DF (2010) Sipoleucel-T immunotherapy for castration-resistant prostate cancer. *N Engl J Med* 363 (5):411-22.
37. Kantoff PW, Schuetz TJ & Blumenstein BA (2010a) Overall survival analysis of a phase II randomized controlled trial of a Poxviral-based PSA-targeted immunotherapy in metastatic castration-resistant prostate cancer. *J Clin Oncol* 28:1099-105.
38. Katzenwadel A, Schleier H, Gierschner D, Werrerauer U & Elsaesser-Beile U (2000) Construction and in vivo evaluation of anti PSA x anti CD3 bispecific antibody for the immunotherapy of prostate cancer. *Anticancer Res* 20 (3A):1551-5.
39. Krishnamachari Y, Geary SM, Lemke CD & Salem AK (2011) Nanoparticle delivery systems in cancer vaccines. *Pharm Res* 28:215-236.
40. Kwon ED, Drake CG & Scher HI et al. (2014) Ipilimumab versus placebo after radiotherapy in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer that had progressed after docetaxel chemotherapy (CA184-043): a multicentre, randomised, double-blind, phase 3 trial. *The Lancet Oncology* 15:700-712.
41. Kwon ED, Foster BA, & Hurwitz A et al. (1999) Elimination of residual metastatic prostate cancer after surgery and adjunctive cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 (CTLA-4) blockade immunotherapy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96 (26):15074-15079.
42. Laus R, Yang DM & Ruegg CL et al. (2001) Dendritic cell immunotherapy of prostate cancer: preclinical models and early clinical experience. *Cancer Research, Therapy and Control* 11 (1):1-10.

43. Lawrence F & Small EJ (2007) Immunotherapy for Prostate Cancer. *Current Prostate Reports* 5 (1):226-233.
44. Lee SY, Kang TH, Knoff J, Huang Z, Soong RS, Alvarez RD et al. (2013) Intratumoral injection of therapeutic HPV vaccinia vaccine following cisplatin enhances HPV-specific antitumor effects. *Cancer Immunol Immunother* 62 (7):1175-85.
45. Lesterhuis WJ, Punt CJ, Hato SV et al. (2011) Platinum based drugs disrupt STAT6-mediated suppression of immune responses against cancer in humans and mice. *J Clin Invest* 121:3100-8.
46. Lindau D, Gielen P, Kroesen M, Wesseling P & Adema GJ (2013) The immunosuppressive tumor network: myeloid-derived suppressor cells, regulatory T cells and natural killer T cells. *Immunology* 139 (2):105-115.
47. Madan RA, Arlen PM, Mohebtash M, Hodge JW & Gulley JL (2009) Prostate-VF: a vector-based vaccine targeting PSA in prostate cancer. *Expert Opin Investig Drugs* 18:1001-1011.
48. Mandl SJ, Rountree RB, de la Cruz TB, Foy SP, Cote JJ, Gordon EJ et al. (2014) Elucidating immunologic mechanisms of PROSTVAC cancer immunotherapy. *Journal for Immunotherapy of Cancer* 2 (34):1-13.
49. Melnyk O, Zimmerman M, Kim KJ & Shuman M (1999) Neutralizing anti-vascular endothelial growth factor antibody inhibits further growth of established prostate cancer and metastases in a pre-clinical model. *J Urol* 161 (3):2963-70.
50. Miller AM & Piss P (2007) Tumor escape mechanisms in prostate cancer. *Cancer Immunology, Immunotherapy* 56 (1):81-87.
51. Mohler JL, Armstrong AJ, Higano CS, Rohren E, Tward J, Tward J et al. (2015) Prostate Cancer. *NCCN Guidelines* 1.
52. Mottet N, Bellmunt J, Bolla M et al. (2011) EAU guidelines on prostate cancer. Part II: Treatment of advanced, relapsing, and castration-resistant prostate cancer. *Eur Urol* (59):572-83.
53. Mouraviev V, Pieczonka CM, Albala D et al. (2014) Effect of combined sequential treatment of Sipoleuce-T followed by enzalutamide in metastatic chemotherapy naive-castration resistant prostate cancer: results of single center of large urology group. *J Clin Oncol* 32.
54. Pasini J (2001) Rak prostate. *Medicus* 10 (2):201-205.
55. Quinn DI, Shore ND, Egawa S, Gerritsen WR & Fizazi K (2014) Immunotherapy for castration-resistant prostate cancer: Progress and new paradigms. *Urol Oncol*.
56. Rini BI & Small EJ (2003) The potential for prostate cancer immunotherapy. *Crit Rev Onc* 46:117-25.
57. Rosenberg SA, Yang JC, Sherry RM, Kammula US, Hughes MS, Phan GQ et al. (2011) Durable complete responses in heavily pretreated patients with metastatic melanoma using T-cell transfer immunotherapy. *Clin. Cancer* 17:4550-7.
58. Schellhammer PF, Chodak G, Whitmore JB et al. (2013) Lower baseline prostate-specific antigen is associated with a greater overall survival benefit from Sipoleuce-T in the Immunotherapy for Prostate Adenocarcinoma Treatment (IMPACT) trial. *Urology* 81:1297-302.
59. Schweizer MT & Drake CG (2014) Immunotherapy for prostate cancer: recent developments and future challenges. *Cancer and Metastasis Reviews* 33 (2-3):641-655.
60. Silva JM, Videria M, Gaspar R, Preat V & Florindo HF (2013) Immune system targeting by biodegradable nanoparticles for cancer vaccines. *J. Control. Release* 168:179-199.
61. Small TD, Gerritsen WR, Rolland F et al. (2009) A phase III trial of GVAX immunotherapy for prostate cancer in combination with docetaxel vs docetaxel plus prednisone in symptomatic, castration-resistant prostate cancer (cprc). *Proceedings of Genitourinary Cancer Symposium*.
62. Small E, Fratesi P, Reese D et al. (2000) Immunotherapy of hormone-refractory prostate cancer with antigen-loaded dendritic cells. *Journal of Clinical Oncology* 18 (23):3894-3903.
63. Small EJ, Schellhammer PF, Higano CS et al. (2006) Placebo-controlled phase III trial of immunologic therapy with Sipoleuce-T (APC8015) in patients with metastatic, asymptomatic hormone refractory prostate cancer. *Journal of Clinical Oncology* 24 (19):3089-3094.

64. Solarić M, Grgić M, Omrčen T, Petković M, Froebe A, Belaj N et al. (2013) Kliničke upute za dijagnostiku, liječenje i praćenje bolesnika oboljelih od raka prostate Hrvatskog onkološkog društva i Hrvatskog urološkog društva Hrvatskog liječničkog zbora. *Liječ Vjesn* (135):298-305.
65. Sondak VK, Smalley KS, Kudchadkar R, Grippen S & Kirkpatrick P (2011) Ipilimumab. *Nature Reviews Drug Discovery* 10 (6):411-412.
66. Tomasini P, Khobta N, Greiller L & Barlesi F (2012) Ipilimumab: Its potential in non-small cell lung cancer. *Therapeutic Advances in Medical Oncology* 4 (2):43-50.
67. Tse BW, Collins A, Oehler MK et al. (2014) Antibody-based immunotherapy for ovarian cancer: where are we at? *Annals of Oncology* 25 (2):322-331.
68. Vacchelli E, Martins I, Eggermont A, Friedman WH, Galon J, Sautes-Fridman C et al. (2012) Trial watch: peptide vaccines in cancer therapy. *Oncoimmunology* 1:1557-76.
69. Vesalainen S, Lipponen P, Talja M & Syrjänen K (1994) Histological grade, perineural infiltration, tumor-infiltrating lymphocytes and apoptosis as determinants of long-term prognosis in prostatic adenocarcinoma. *European Journal of Cancer A* 30 (12):1797-1803.
70. Walsh PC & Donker PJ (1982) Impotence following radical prostatectomy: insight into etiology and prevention. *J Urol* (128):492-497.
71. Wan-Chi Tse B, Jovanovic L, Nelson CC, de Souza P, Power CA & Russell PJ (2014) From Bench to Bedside: Immunotherapy for Prostate Cancer. *BioMed Research International*.
72. Wang MC, Valenzeula LA, Murphy GP & Chu TM (1979) Purification of a human prostate specific antigen. *Invest Urol* 17:159-163.
73. Ward JE & McNeel DG (2007) GVAX: an allogenic, whole-cell, GM-CSF-secreting cellular immunotherapy for the treatment of prostate cancer. *Expert Opinion on Biological Therapy* 7 (12):1893-1902.
74. Wing K, Onishi Y, Prieto-Martin P et al (2008) CTLA-4 control over Foxp3+ regulatory T cell function. *Science* 323 (8899):271-275.
75. Yang JC, Hughes M, Kammula U et al. (2007) Ipilimumab (anti CTLA-4 antibody) causes regression of metastatic renal cell cancer associated with enteritis and hypophysitis. *Journal of Immunotherapy* 30 (8):825-830.

7 ŽIVOTOPIS

Studentica sam na kraju 6. godine Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Studij za doktora medicine upisala sam 2009. godine, nakon završene Klasične gimnazije u Zagrebu. Studentica sam među 10% najboljih studenata u svojoj generaciji.

U kolovozu 2014. bila sam na praktičnoj kliničkoj razmjeni u Hamburgu. Radila sam na odjelu internističke onkologije u *Universität Klinikum Eppendorf*.

U suradnji s prof.dr.sc. Franom Borovečkim, kolegicama Antonelom Čirko i Paulom Šupraham te ostalim suradnicima sa *Odjela za funkcionalnu genomiku Centra za translacijska i klinička istraživanja* 2014. godine osvojila sam *Rektorovu nagradu* za znanstveni rad na temu: *Analiza glikomskog profila u uzorcima plazme bolesnika s Parkinsonovom bolešću*. U rad odjela uključila sam se 2012. godine.

Ljeto 2013. u sklopu programa stipendiranja budućih znanstvenika *Amgen Scholars Programme*, provela sam u laboratoriju *Klinike Großhadern na Ludwig-Maximilians Universität* u Münchenu. Tamo sam imala priliku raditi sa kulturama mišjih matičnih stanica, a moj projekt je proučavao ulogu proteina EpCAM u diferencijaciji stanica. Rezultate tog projekta predstavila sam u obliku postera na *Amgen Scholars Europe Program Symposium* na *University of Cambridge* u Velikoj Britaniji.

U kolovozu 2012. sam bila na razmjeni u Philadelphiji u SAD-u, gdje sam radila u laboratoriju na projektu o hormonski ovisnim tumorima na *Fels Institute for Cancer Research and Biochemistry, Temple University*.

Od 2010. do 2014. godine bila sam demonstrator na Zavodu za Anatomiju.

Aktivan sam član međunarodne udruge studenata medicine - CroMSIC u sklopu koje sam radila na nizu projekata na nacionalnoj i internacionalnoj razini, a najviše u području znanstvenih razmjena za studente.